

PCT

WELTOGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation⁵ : G01N 30/48, B01D 15/08</p>		<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/19687</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. September 1994 (01.09.94)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP94/00488</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: CZ, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p>	
<p>(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Februar 1994 (18.02.94)</p>		<p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>	
<p>(30) Prioritätsdaten: PCT/EP93/00447 26. Februar 1993 (26.02.93) WO (34) Länder für die die regionale oder internationale Anmeldung eingereicht worden ist: GB usw.</p>			
<p>(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).</p>			
<p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): CABRERA, Karin [DE/DE]; Mühlweg 14, D-63303 Dreieich (DE). SÄTTLER, Günther [DE/DE]; Scribastrasse 15, D-64354 Reinheim (DE). WIELAND, Gerhard [DE/DE]; Im Bangert 19, D-64625 Bensheim (DE).</p>			
<p>(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).</p>			
<p>(54) Title: SEPARATOR</p>			
<p>(54) Bezeichnung: TRENNMITTEL</p>			
<p>(57) Abstract</p>			
<p>Porous ceramic shaped bodies are used as a substance separating medium, in particular as a stationary phase for chromatography. Also disclosed are surface-modified porous ceramic shaped bodies, as well as chromatography columns and cartridges containing the porous ceramic shaped bodies as stationary phase.</p>			
<p>(57) Zusammenfassung</p>			
<p>Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern als Medium für Stofftrennungen, insbesondere als stationäre Phase für die Chromatographie. Weiterhin betrifft die Erfindung oberflächenmodifizierte poröse keramische Formkörper, sowie Chromatographiesäulen und -kartuschen, die poröse keramische Formkörper als stationäre Phase enthalten.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakci
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Trennmittel**Beschreibung**

5 Die Erfindung betrifft die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern als Medium für Stofftrennungen, insbesondere als stationäre Phase in der Chromatographie. Die Erfindung betrifft weiterhin keramische Formkörper, deren Porenoberflächen modifiziert sind.

10 Stofftrennungen im Sinne der Erfindung umfassen im wesentlichen chromatographische Trennungen, beispielsweise mittels Säulen-, Dünnschicht- oder Gaschromatographie, Flüssig-Flüssig-Extraktionen, Adsorptions- und Desorptionsverfahren unter Beteiligung einer Gasphase oder einer flüssigen Phase und elektrophoretische Trennungen. Nicht 15 umfaßt unter diesem Begriff sind destillative und mechanische Trennungen, beispielsweise Filtrationen.

Bei den Verfahren der Säulenflüssigkeitschromatographie werden Chromatographierohre benutzt, die an beiden Enden mit Filterelementen verschlossen sind, und die mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel versehen sind. In diese Rohre werden pulverförmige Sorbentien eingefüllt. Anstelle von Chromatographierohren, bei denen alle Bauelemente ausgetauscht werden müssen, werden auch Kartuschenysteme benutzt, bei denen lediglich ein Rohr mit 25 Filterelementen, das ein pulverförmiges Sorbens enthält, ausgetauscht werden muß. Die Verschraubungen sind weiterverwendbar. Derartige Kartuschenysteme sind in EP-B-0 268 185 und in EP-B-0 305 817 beschrieben. Bei derartigen Säulenpackungen bestehend aus losen pulverförmigen Sorbentien kommt es beispielsweise durch mechanische Beanspruchung zu Veränderungen, wodurch die Reproduzierbarkeit 30 zwischen Chromatographieläufen verringert wird.

Aufgabe der Erfindung ist es, stationäre Phasen mit stabiler Struktur für Stofftrennungen, insbesondere für die Chromatographie, beispielsweise für die Dünnschicht- und Säulenchromatographie, bereitzustellen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen gelöst.

5 Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen mit der Maßgabe, daß diese Formkörper mit dreidimensional interkonnektierendem Porensystem nicht durch Formgebung einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren Masse hergestellt werden, wobei man den Formkörper schichtenweise durch wiederholte Abfolge der Schritte

10 - Erzeugung einer entsprechend dem Porensystem bildartig strukturierten Schicht aus der Masse
- Verfestigung der Schicht aufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.

15 Gegenstand der Erfindung ist ein poröser keramischer Formkörper, dessen Porenflächen modifiziert sind, und dessen Verwendung für Stofftrennungen. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform sind die Mantelflächen dieses Formkörpers unporös oder mit einem dichten Überzug versehen.

20 Gegenstand der Erfindung ist eine Chromatographiesäule ausgerüstet mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.

25 Gegenstand der Erfindung ist eine Kartusche für die Flüssigkeitschromatographie, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.

30 In der Abbildung 1 ist eine erfindungsgemäße Chromatographiesäule dargestellt.

35 In der Patentanmeldung DE 42 05 969 wird ein spezielles Verfahren zur Herstellung poröser keramischer Formkörper, sowie die Verwendung derartiger Formkörper für die Chromatographie offenbart: Poröse Formkörper mit dreidimensional interkonnektierendem Porensystem werden durch Formgebung.

einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren Masse hergestellt, wobei man den Formkörper schichtenweise durch wiederholte Abfolge der Schritte

- Erzeugung einer entsprechend dem Poresystem bildartig strukturierten Schicht aus der Masse
- Verfestigung der Schicht

aufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.

10 Es hat sich jedoch herausgestellt, daß auch nach anderen Verfahren hergestellte poröse keramische Formkörper als stationäre Phase bei der Chromatographie oder anderen Verfahren der Stofftrennung eingesetzt werden können.

15 Erfindungsgemäß können die dem Fachmann für die Herstellung von Keramiken bekannten Materialien benutzt werden, die bei Temperaturen zwischen 600 und 2000 °C gesintert werden. Dazu gehören oxidische und nichtoxidische anorganische Materialien wie z.B. Oxide, Carbide, Boride, Nitride sowie Mischungen davon. Beispiele solcher Materialien sind

20 insbesonders calciumphosphathaltige Verbindungen wie Hydroxylapatit, SiO_2 , Al_2O_3 , SiC , SiOC , ZrO_2 , TiO_2 und BN.

Herkömmliche Chromatographiesäulen können eine im wesentlichen monomodale Porengrößenverteilung aufweisen, wenn die verwendeten Partikel eng klassiert und nicht porös sind; sie weisen eine im wesentlichen bimodale Porengrößenverteilung auf, beispielsweise wenn die Säulenpackung aus eng klassierten porösen Partikeln besteht. Auch andere Porengrößenverteilungen sind bei herkömmlichen Chromatographiesäulen bekannt. Entsprechend können die erfindungsgemäß benutzten porösen Formkörper eine im wesentlichen monomodale Porengrößenverteilung oder eine im wesentlichen bimodale Porengrößenverteilung aufweisen. Auch andere Porengrößenverteilungen können erfindungsgemäß benutzt werden. Dazu gehören auch durchgängige kanalförmige Poren. Dem Fachmann sind geeignete Verfahren zur Herstellung von porösen keramischen Formkörpern aus verschiedenartigen Materialien bekannt. Geeignete Ausgangsmaterialien und Verfahrensvarianten sind in Handbüchern wie Ullmann's

Encyclopedia of Industrial Chemistry (1986) Verlag Chemie und in Kingery, W.D., Bowen, H.K., und Uhlmann, D.R. (1976) Introduction to Ceramics, John Wiley Verlag, beschrieben. Entsprechend dem Verwendungszweck können die erfindungsgemäß verwendeten porösen keramischen

5 Formkörper verschiedene geometrische Formen, wie z.B. Zylinder, Prismen, Quader, Kegel, Scheiben oder Platten, aufweisen. Beispielsweise werden bei der Verwendung für die Säulenchromatographie zylinderförmige poröse Formkörper bevorzugt, bei der Dünnschichtchromatographie scheiben- oder plattenförmige Formkörper.

10 Bei herkömmlichen chromatographischen Trennverfahren werden häufig chemisch modifizierte Trennmaterialien eingesetzt, um unterschiedlichste Selektivitäten für die verschiedenen Prinzipien der chromatographischen Stofftrennung zu erreichen:

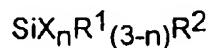
15 Adsorptionschromatographie,
reversed phase (RP) Chromatographie,
Verteilungschromatographie,
Gelpermeationschromatographie,
hydrophobe Interaktionschromatographie,

20 Affinitätschromatographie,
Ionen austauschchromatographie,
chromatographische Trennung von Racematen an chiralen Trägern,
selektive Adsorption und Desorption.

25 Die Adsorptionschromatographie wird u. a. auch bei der Probenvorbereitung als spezielle Ausführungsform eingesetzt. Dabei werden Sorbentien, die im wesentlichen aus einem anorganischen Basisträger bestehen, beispielsweise aus SiO_2 oder Al_2O_3 , an der Oberfläche modifiziert, um das Trennmögen des Materials zu beeinflussen. Grundsätzlich können die zur

30 Modifizierung chromatographischer Trägermaterialien eingesetzten Verfahren auch zur Modifizierung der erfindungsgemäß Formkörpern benutzt werden; geeignete Modifikationsverfahren sind dem Fachmann bekannt. Der erfindungsgemäß verwendete Begriff "oberflächenmodifiziert" ist in diesem Sinn zu verstehen. Beispiele derartiger für den genannten

35 Zweck bekannter Oberflächenmodifikationen sind:
a) Die Derivatisierung mit Silanderivaten der Formel I



worin

5 X Methoxy, Ethoxy oder Halogen,
R¹ C₁ - C₅ -Alkyl,
n 1, 2 oder 3
bedeuten und
R² eine der im folgenden angegebene Bedeutungen besitzt:
10 a1) unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl oder Aryl, wie z.B.
 n-Octadecyl, n-Octyl, Benzyl- oder Cyanopropyl;
 a2) anionische oder saure Reste, wie z.B. Carboxypropyl;
 a3) kationische oder basische Reste, wie z.B. Aminopropyl,
 Diethylaminopropyl oder Triethylammoniumpropyl;
15 a4) hydrophile Reste, wie z.B. (2,3-Dihydroxypropyl)-oxypropyl;
 a5) bindungsfähige aktivierte Reste, wie z.B. (2,3-Epoxypropyl)-oxypropyl.

b) Die Adsorption oder chemische Bindung von Polymeren wie
Polybutadien, Siloxanen, Polymeren auf der Grundlage von
20 Styrol/Divinylbenzol, von (Meth)acrylsäurederivaten oder von anderen
Vinylverbindungen, sowie von Peptiden, Proteinen, Polysacchariden und
Polysaccharidderivaten an dem Basisträger;

c) Die chemische Bindung von unter b) genannten Polymeren über die unter
25 a) genannten Derivate; dazu gehören Ppropfpolymerisate von Poly(meth)-
acrylsäurederivaten auf diolmodifiziertem Kieselgel nach EP-B-0 337 144.

d) Die Adsorption oder chemische Bindung von chiralen Phasen, wie z.B.
von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Proteinen, oder von
30 Cyclodextrinen, Polysacchariden oder Polysaccharidderivaten.

Weitere gebräuchliche Derivatisierungsmöglichkeiten und Derivatisierungsverfahren sind dem Fachmann bekannt und in gängigen Handbüchern wie
Unger, K.K. (ed) Porous Silica, Elsevier Scientific Publishing Company
35 (1979) oder Unger, K.K. Packings and Stationary Phases in
Chromatographic Techniques, Marcel Dekker (1990) beschrieben.

Die erfindungsgemäßen Formkörper besitzen die für Säulen in der Flüssigkeitschromatographie gebräuchlichen Abmessungen: 2 - 10 mm Durchmesser für analytische Anwendungen und größere Durchmesser (bis zu ca. 0,5 m) für präparative Anwendungen; die Länge beträgt wenige Millimeter bis zu 50 cm, jedoch werden in Spezialfällen auch Säulen von bis zu 2 m Länge eingesetzt. Die erfindungsgemäßen Formkörper sind sowohl als Trenn- als auch als Vorsäulen geeignet. Dabei entfällt das Packen von Säulen oder Kartuschen, wodurch insbesondere bei Vorsäulen, die häufig nur einmal verwendet werden, eine große Ersparnis entsteht. Die erfindungsgemäßen Formkörper stellen ein im Vergleich zu herkömmlichen Sorbenspackungen festes, unveränderliches Sorbensbett dar. Nach ihrer Verwendung sind die erfindungsgemäß benutzten Formkörper leicht zu entsorgen, da diese im Gegensatz zu Säulen oder Kartuschen im wesentlichen nur aus dem keramischen Material bestehen.

Bei der Verwendung als Träger für die Dünnschichtchromatographie sind die Formkörper als dünne Schichten ausgebildet, die zusätzlich einen dickeren unporösen Teil aufweisen können, oder die auf einem nicht-porösen Hilfsträger aufgebracht sein können. Bei der erfindungsgemäßen Verwendung von Formkörpern in der Dünnschichtchromatographie entfällt das aufwendige Auftragen der Sorbensschicht auf die Platte oder Folie.

Die Porosität ist eine wesentliche Eigenschaft der erfindungsgemäß verwendeten keramischen Formkörper. Die Porosität hat wesentliche Einflüsse auf das Flußverhalten, auf die für die chromatographische Trennung wirksame Oberfläche und auf die Möglichkeit, die Oberflächen des Formkörpers zu derivatisieren. Die Porosität wird als Verhältnis von Porenvolumen zum Gesamtvolumen des Formkörpers ausgedrückt. Dieses Verhältnis lässt sich beispielsweise durch die Bestimmung der mittleren Dichte des Formkörpers bestimmen, wenn die Dichte des Gerüstmaterials bekannt ist. Andere Bestimmungsmethoden für die Porosität beruhen auf der Gewichtsbestimmung vor

und nach Sättigung des Formkörpers mit Wasser oder auf der Porosometrie. Der Porositätsbereich ist abhängig von dem angewendeten Trennverfahren und den Dimensionen des Formkörpers. Für die Säulenflüssigkeitschromatographie wird ein Porositätsgrad von 20 - 75 %, insbesondere von 50 - 65 %, 5 bevorzugt. Die Oberfläche der erfindungsgemäß verwendeten porösen Formkörpern beträgt typischerweise 1 - 1000 m²/g.

Die in der Abbildung 1 beispielhaft dargestellte erfindungsgemäße Chromatographiesäule besteht aus einem als Sorbensbett dienenden 10 porösen keramischen Formkörper (1), einem flüssigkeitsdichten Mantel (2) aus Teflon, einem Druckmantel (3) mit endständigen Überwurfmuttern (4) mit Anschlußstücken (5). Zwischen dem Formkörper und dem Anschlußstück kann ein Filter (6), beispielsweise ein Sieb aus Teflon, angeordnet sein. Um den flüssigkeitsdichten Mantel von dem Elutionsmitteldruck zu entlasten, 15 kann durch einen Anschlußstutzen (7) im Druckmantel eine druckübertragende Flüssigkeit in einen Spalt (8) zwischen flüssigkeitsdichten Mantel (2) und Druckmantel (3) gepreßt werden, wobei der dabei aufgewendete Druck im allgemeinen höher oder gleich dem Elutionsmitteldruck ist. Als druckübertragende Flüssigkeit können 20 Hydrauliköle, wäßrige Lösungen oder das Elutionsmittel dienen.

25

Beispiele:**A Behandlung und Derivatisierung von Formkörpern****Beispiel A1: Behandlung eines Formkörpers aus Al₂O₃**

30 Ein handelsüblicher poröser Formkörper aus Al₂O₃ mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Länge von 125 mm (Porositätsgrad 20-30 %) wird in einer Mischung aus 125 ml Acetonitril und 125 ml Natronlauge (25 mM) gelegt und in einem Laborultraschallbad 45 Minuten beschallt. Anschließend wird der Formkörper in reinem Acetonitril nochmals beschallt (15 Minuten).

35

Beispiel A2: Behandlung eines Formkörpers aus SiO₂

Ein handelsüblicher keramischer Formkörper aus SiO₂ mit einem Durchmesser von 4 mm, einer Länge von 125 mm und einer Porosität von 50 Vol% wird in einen mit 25%iger Salzsäure gefüllten Meßzylinder gegeben und dort 48 Stunden belassen. Anschließend wird er mehrmals mit Methanol/ Wasser gewaschen.

10 **Beispiel A3: Modifizierung eines porösen keramischen Formkörpers**

Ein handelsüblicher keramischer Formkörper aus SiO₂ mit einem Durchmesser von 4 mm, einer Länge von 125 mm und einer Porosität von 50 Vol% wird nach dem von Gilpin et al. beschriebenen Verfahren (Anal. Chem. 46, 1314 ff (1974)) in situ mit Methyloctadecyldichlorsilan chemisch derivatisiert: Dazu wird eine Lösung (10 % G/G) des Silans in Toluol durch den Formkörper gepumpt. Anschließend wird mit reinem Toluol gewaschen und mit Acetonitril und Acetonitril-Wasser (50:50; V:V) bis zum Erreichen einer konstanten Basislinie konditioniert.

20

Beispiel A4: Herstellung eines für Vorsäulen geeigneten Formkörpers aus Al₂O₃

25 Nach Beispiel A1 hergestellte Formkörper werden in kurze (Länge 4 mm) Stücke getrennt, die in eine Vorsäulenhalterung passen.

30 **Beispiel A5: Herstellung eines porösen, chemisch modifizierten, keramischen Formkörpers**

Der nach Beispiel A2 vorbehandelte Formkörper wird wie unter Beispiel A3 beschrieben chemisch modifiziert.

35

B Chromatographiesäulen und -kartuschen**Beispiel B1: Trennsäule mit einem porösen keramischen Formkörper**

5 Der Formkörper aus Beispiel A1 wird in eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

10

Beispiel B2: Trennsäule mit einem derivatisierten, porösen keramischen Formkörper

15 Der Formkörper aus Beispiel A3 wird in eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

20

Beispiel B3: Trennsäule mit einem porösen, chemisch modifizierten, keramischen Formkörper

25 Der Formkörper aus Beispiel A5 wird in eine Halterung eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

30

35

- 10 -

Beispiel B4: Trennsäule mit einem porösen keramischen Formkörper

Ein handelsüblicher poröser Formkörper aus ZrO_2 mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Länge von 125 mm (Porositätsgrad 20-30 %) wird in 5 eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

10

C Anwendungsbeispiele

Beispiel C1: Trennung isomerer Nitroanilide

15

Auf die Trennsäule aus Beispiel B1 werden 5 μl einer Mischung von 2-Nitroacetanilid (88 $\mu g/ml$) und 3-Nitroacetanilid (545 $\mu g/ml$) in dem Elutionsmittel n-Heptan/Dioxan (80:20; V:V) aufgetragen. Es wird mit 0,05 ml/min eluiert und durch Messung der UV- Absorption bei 254 nm detektiert. Beide 20 Substanzen werden getrennt nach 22 Minuten (2-Nitroacetanilid) und nach 51 Minuten (3-Nitroacetanilid) eluiert.

25

Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 μl einer Mischung von Naphthalin (17 $\mu g/ml$), Anthracen (3 $\mu g/ml$) und Benzantracen (600 $\mu g/ml$) in dem Elutionsmittel Acetonitril/Wasser (50:50; V:V) aufgegeben. Es wird mit einem Fluß von 1 ml/ Min. eluiert und durch UV-Absorption bei 254 nm 30 detektiert. Alle drei Substanzen werden getrennt:

Retentionszeiten in Min

Naphthalin	1.6
Anthracen	3.1
Benzanthracen	6.8

35

Beispiel C3: Trennung von methylierten Anilinen

10 Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 μ l einer Mischung von Anilin, N-Methylanilin und N,N-Dimethylanilin in dem Elutionsmittel Acetonitril/Wasser (75:25; V:V) aufgegeben. Es wird mit 0.8 ml/ Min eluiert und durch 5 Messung der UV-Absorption bei 254 nm detektiert. Alle drei Substanzen werden getrennt:

		Aufgabe in μ g/ ml	Retentionszeit in Min
10	Anilin	13.2	1.05
	N-Methylanilin	8.6	1.74
	N,N-Dimethylanilin	12.9	4.9

Beispiel C4: Trennung alkylierter Aniline

15 Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 μ l einer Mischung aus N,N-Dimethylanilin und N,N-Diethylanilin aufgegeben und unter den 20 Bedingungen wie in Beispiel C3 angegeben eluiert. Beide Substanzen werden getrennt eluiert:

		Aufgabe in μ g/ ml	Retentionszeit in Min
	N,N-Dimethylanilin	5.8	1.22
	N,N-Diethylanilin	21.3	8.13

25

Beispiel C5: Trennung von Phtalsäureestern

30 Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 μ l einer Mischung aus Benzylbutylphthalat und Dinonylphthalat aufgegeben und unter den Bedingungen wie in Beispiel C3 angegeben eluiert. Beide Substanzen werden getrennt eluiert:

		Aufgabe in μ g/ ml	Retentionszeit in Min
	Benzylbutylphthalat	130	1.03
	Dinonylphthalat	410	5.66

35

Beispiel C6: Trennung von Proteinen

Auf die Trennsäule aus Beispiel B3 werden 10 µl einer Proteinmischung aus Trypsin, Ribonuclease A, Cytochrom C, BSA und Ovalbumin gelöst in 0.1% Trifluoressigsäure aufgegeben. Unter folgenden Bedingungen wird eluiert:
 5 Fluß: 0.8 ml/ Min; Detektion: UV-Absorption bei 280 nm; Eluent : A: Wasser + 0.2% Trifluoressigsäure und B: Acetonitril + 0.2% Trifluoressigsäure; Gradient: von A: 80% + B: 20% auf A: 0% + B: 100% innerhalb von 10 Min. Die 5 Proteine werden getrennt:

10

		Konzentration mg/ ml	Retentionszeit in Min
	Trypsin	5.5	0.7
	Ribonuclease A	2.3	3.52
	Cytochrom C	2.1	4.41
15	BSA	3.2	5.08
	Ovalbumin	6.9	5.52

20

Beispiel C7: Trennung von isomeren Nitroacetaniliden

25

Auf die Trennsäule aus Beispiel B4 werden 5 µl einer Mischung aus 2-Nitroacetanilid (88 µg/ ml) und 3-Nitroacetanilid (545 µg/ ml) in dem Elutionsmittel n-Heptan/Dioxan (99:1; V:V) aufgetragen. Es wird mit 0,2 ml/min eluiert und durch Messung der UV- Absorption bei 254 nm detektiert. Beide Substanzen werden getrennt nach 4,4 Minuten (2-Nitroacetanilid) und nach 9,7 Minuten (3-Nitroacetanilid) eluiert.

30

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung der porösen keramischen Formkörper in Kartuschensystemen sind keine zusätzlichen Säulenrohre aus Glas oder Edelstahl notwendig, sondern lediglich die Verwendung von wiederverwendbaren Halterungen. Da die Formkörper aus einem einheitlichen Material bestehen, ist die Entsorgung verbrauchter Kartuschen erheblich vereinfacht. Die feste unveränderliche Packung des Sorbens gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Chromatographieläufen.

35

- 13 -

5 Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs in irgendeiner Weise begrenzende Offenbarung aufzufassen.

10 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Patentanmeldungen, Patente und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeschlossen.

15

20

25

30

35

Ansprüche

1. Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen mit der Maßgabe, daß diese Formkörper mit dreidimensional interkonnektierendem Poresystem nicht durch Formgebung einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren Masse hergestellt werden, wobei man den Formkörper schichtenweise durch wiederholte Abfolge der Schritte
 - Erzeugung einer entsprechend dem Poresystem bildartig strukturierten Schicht aus der Masse
 - Verfestigung der Schichtaufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.
- 15 2. Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen, dadurch gekennzeichnet, daß Formkörper verwendet werden, deren Porenflächen modifiziert sind.
- 20 3. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung durch Chromatographie erfolgt.
4. Poröser keramischer Formkörper, dadurch gekennzeichnet, daß die Porenflächen modifiziert sind.
- 25 5. Formkörper nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß er die Form eines Zylinders mit kreisförmigen oder elliptischen Querschnitt oder einer prismatischen Säule besitzt.
- 30 6. Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Mantelfläche(n) unporös sind.
7. Formkörper nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß er die Form einer flachen Scheibe oder Platte besitzt.

- 15 -

8. Chromatographiesäule ausgerüstet mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.
- 5 9. Kartusche für die Flüssigkeitschromatographie, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.
- 10 10. Verfahren zur säulenchromatographischen Auf trennung eines Gemisches, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säule nach Anspruch 6 verwendet wird.

15

20

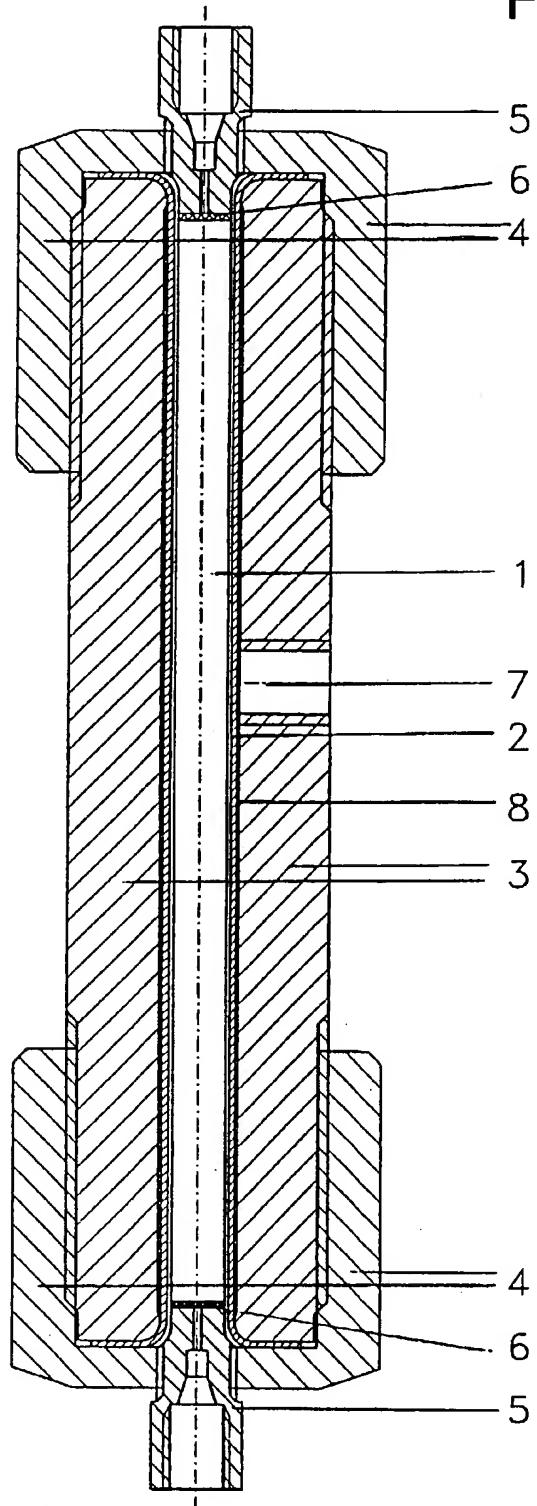
25

30

35

1/1

Fig. 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 94/00488A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 G01N30/48 B01D15/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 G01N B01D B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 8, 20 February 1989, Columbus, Ohio, US; abstract no. 62516w, IWAMOTO 'MANUFACTURE OF GLASS-CERAMICS' page 311 ;column 1 ; see abstract & JP,A,63 201 020 (IWAMOTO) 19 August 1988 ---	1,3
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 90, no. 24, 11 June 1979, Columbus, Ohio, US; abstract no. 197143, KATO 'COLUMN FOR GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY' page 714 ;column 1 ; see abstract & JP,A,7 909 691 (KATO) 24 January 1979 ---	1,3,5,6 -/-

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

1 Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

24 June 1994

06.07.94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 cpo nl
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wendling, J-P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 94/00488

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE WPI Week 9103, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-019089 & JP,A,2 291 963 (MATSUNAMI GLASS) 3 December 1990 see abstract ---	1,3,5,6, 10
A	EP,A,0 220 764 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHN.) 6 May 1987 see page 4, line 1 - page 5, line 40 see page 6-7; claims 1-17 ---	1,3
A	EP,A,0 313 090 (ASAHI) 26 April 1989 see page 3, column 4, line 6-7 see column 9-11; claims 1-19 ---	1,3
A	FR,A,2 121 002 (SHIONOGI) 18 August 1972 see page 4, line 31 - page 5, line 8 see page 9-10; claims 1-12 ---	1,3,5-7
A	US,A,4 933 307 (MARSHALL) 12 June 1990 see column 1, line 40 - column 2, line 56 ---	1,3
A	EP,A,0 161 659 (FUJI PHOTO) 21 November 1985 see page 20; claims 1-3 ---	1-4
A	EP,A,0 160 267 (KANTO) 6 November 1985 see page 22, line 24 - page 26, line 9 ---	1,3
A	DE,A,41 02 635 (STEINACHGLAS) 6 August 1992 see page 2, line 1-7 ---	1
A	US,A,3 549 524 (HALLER) 22 December 1970 see column 9-10; claims 1-13 ---	1-4,10
A	WO,A,93 01494 (TOXI LAB) 21 January 1993 see page 32-35; claims 1-12 ---	1,4,8
P,A	DE,A,42 05 969 (MERCK) 2 September 1993 cited in the application see column 8, line 4-32 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/EP 94/00488

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
JP-A-63201020	19-08-88	NONE		
JP-A-7909691		NONE		
EP-A-0220764	06-05-87	JP-C-	1617152	12-09-91
		JP-B-	2062503	25-12-90
		JP-A-	62202839	07-09-87
		CA-A-	1257299	11-07-89
		US-A-	4778777	18-10-88
EP-A-0313090	26-04-89	DE-D-	3888079	07-04-94
		US-A-	5030611	09-07-91
		JP-A-	2064075	05-03-90
FR-A-2121002	18-08-72	DE-A-	2165398	27-07-72
		NL-A-	7117173	03-07-72
US-A-4933307	12-06-90	NONE		
EP-A-0161659	21-11-85	JP-A-	60238758	27-11-85
		JP-A-	61104253	22-05-86
		JP-A-	61104254	22-05-86
EP-A-0160267	06-11-85	JP-C-	1734085	17-02-93
		JP-B-	4017900	26-03-92
		JP-A-	60226415	11-11-85
		JP-C-	1734086	17-02-93
		JP-B-	4017901	26-03-92
		JP-A-	60226416	11-11-85
		JP-A-	61147162	04-07-86
		US-A-	4871693	03-10-89
		US-A-	4698317	06-10-87
DE-A-4102635	06-08-92	NONE		
US-A-3549524	22-12-70	CH-A-	469260	
		FR-A-	1504830	
		NL-A-	6615823	11-05-67
WO-A-9301494	21-01-93	AU-A-	2310992	11-02-93

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/EP 94/00488

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-4205969	02-09-93	WO-A- 9316865	02-09-93

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/00488

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 5 GO1N30/48 B01D15/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 5 GO1N B01D B01J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 8, 20. Februar 1989, Columbus, Ohio, US; abstract no. 62516w, IWAMOTO 'MANUFACTURE OF GLASS-CERAMICS' Seite 311 ; Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung & JP,A,63 201 020 (IWAMOTO) 19. August 1988 ---	1,3
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 90, no. 24, 11. Juni 1979, Columbus, Ohio, US; abstract no. 197143, KATO 'COLUMN FOR GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY' Seite 714 ; Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung & JP,A,7 909 691 (KATO) 24. Januar 1979 ---	1,3,5,6 -/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *' A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *' E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *' L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *' O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *' P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *' T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *' X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *' Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- *' &' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1	Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 24. Juni 1994	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 06.07.94
	Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HVV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+ 31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Wendling, J-P

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/00488

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE WPI Week 9103, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-019089 & JP,A,2 291 963 (MATSUNAMI GLASS) 3. Dezember 1990 siehe Zusammenfassung ---	1,3,5,6, 10
A	EP,A,0 220 764 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHN.) 6. Mai 1987 siehe Seite 4, Zeile 1 - Seite 5, Zeile 40 siehe Seite 6-7; Ansprüche 1-17 ---	1,3
A	EP,A,0 313 090 (ASAHI) 26. April 1989 siehe Seite 3, Spalte 4, Zeile 6-7 siehe Spalte 9-11; Ansprüche 1-19 ---	1,3
A	FR,A,2 121 002 (SHIONOGI) 18. August 1972 siehe Seite 4, Zeile 31 - Seite 5, Zeile 8 siehe Seite 9-10; Ansprüche 1-12 ---	1,3,5-7
A	US,A,4 933 307 (MARSHALL) 12. Juni 1990 siehe Spalte 1, Zeile 40 - Spalte 2, Zeile 56 ---	1,3
A	EP,A,0 161 659 (FUJI PHOTO) 21. November 1985 siehe Seite 20; Ansprüche 1-3 ---	1-4
A	EP,A,0 160 267 (KANTO) 6. November 1985 siehe Seite 22, Zeile 24 - Seite 26, Zeile 9 ---	1,3
A	DE,A,41 02 635 (STEINACHGLAS) 6. August 1992 siehe Seite 2, Zeile 1-7 ---	1
A	US,A,3 549 524 (HALLER) 22. Dezember 1970 siehe Spalte 9-10; Ansprüche 1-13 ---	1-4,10
A	WO,A,93 01494 (TOXI LAB) 21. Januar 1993 siehe Seite 32-35; Ansprüche 1-12 ---	1,4,8
P,A	DE,A,42 05 969 (MERCK) 2. September 1993 in der Anmeldung erwähnt siehe Spalte 8, Zeile 4-32 -----	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/00488

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
JP-A-63201020	19-08-88	KEINE		
JP-A-7909691		KEINE		
EP-A-0220764	06-05-87	JP-C- JP-B- JP-A- CA-A- US-A-	1617152 2062503 62202839 1257299 4778777	12-09-91 25-12-90 07-09-87 11-07-89 18-10-88
EP-A-0313090	26-04-89	DE-D- US-A- JP-A-	3888079 5030611 2064075	07-04-94 09-07-91 05-03-90
FR-A-2121002	18-08-72	DE-A- NL-A-	2165398 7117173	27-07-72 03-07-72
US-A-4933307	12-06-90	KEINE		
EP-A-0161659	21-11-85	JP-A- JP-A- JP-A-	60238758 61104253 61104254	27-11-85 22-05-86 22-05-86
EP-A-0160267	06-11-85	JP-C- JP-B- JP-A- JP-C- JP-B- JP-A- JP-A- US-A- US-A-	1734085 4017900 60226415 1734086 4017901 60226416 61147162 4871693 4698317	17-02-93 26-03-92 11-11-85 17-02-93 26-03-92 11-11-85 04-07-86 03-10-89 06-10-87
DE-A-4102635	06-08-92	KEINE		
US-A-3549524	22-12-70	CH-A- FR-A- NL-A-	469260 1504830 6615823	11-05-67
WO-A-9301494	21-01-93	AU-A-	2310992	11-02-93

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/00488

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE-A-4205969	02-09-93	WO-A- 9316865	02-09-93